

ΕΜΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

microfluidics στοιχεία θεωρίας και εφαρμογές στη βιολογία

ΠΑΠΑΓΓΕΛΑΚΗΣ ΑΡΙΣΤΕΙΔΗΣ

02105676

microfluidics (μικροροές)

December 29th 1959

There's Plenty of Room at the Bottom

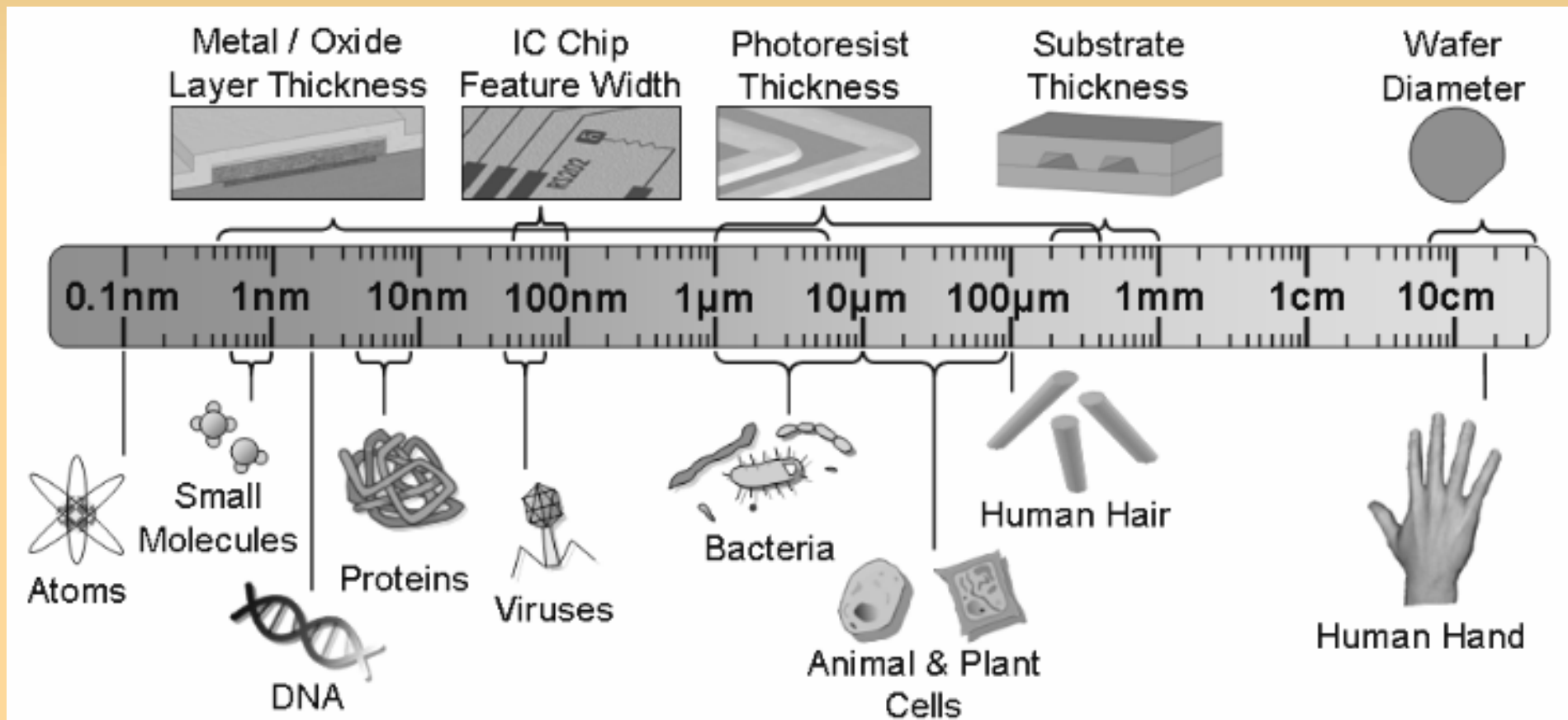
An Invitation to Enter a New Field of Physics

by Richard P. Feynman

"Biology is not simply writing information; it is doing something about it. A biological system can be exceedingly small. Many of the cells are very tiny, but they are very active; they manufacture various substances; they walk around; they wiggle; and they do all kinds of marvelous things – all on a very small scale. Also, they store information. Consider the possibility that we too can make a thing very small which does what we want – that we can manufacture an object that maneuvers at that level!"

microfluidics (μικροροές)

- Συγκριτικά μεγέθη βιολογικών δομών και συνήθεις μικροδομές που χρησιμοποιούνται σε μικροροές και τεχνολογία MEMS.



microfluidics (πλεονεκτήματα)

πλεονεκτήματα μικρορροών

- μικρότερο δείγμα και κατανάλωση reagents:

οι συσκευές μικρορροών τυπικά χρειάζονται 10^2 ως 10^3 μικρότερο όγκο δείγματος από τα συμβατικά assays

- αυξημένη μεταφορά θερμότητας

ο αυξημένος λόγος επιφάνειας προς όγκο των μικροκαναλιών αυξάνει τη θερμική διάχυση (dissipation)

- γρηγορότερος διαχωρισμός

υψηλά ηλεκτρικά πεδία έχουν σαν αποτέλεσμα γρηγορότερη μετακίνηση του δείγματος (sample migration)

microfluidics (πλεονεκτήματα)

- στρωτή ροή

χαμηλοί αριθμοί Reynolds μειώνουν τη διασπορά του δείγματος

- ηλεκτροκινητικοί χειρισμοί

η ηλεκτροοσμωτική ροή επιτρέπει την παροχή ρευστού με επίπεδο προφίλ, μόνο με τη χρήση ηλεκτρικών πεδίων

- χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας

λιγότερα μέρη και αυξημένη θερμική διάχυση απαιτούν μικρότερη παροχή ενέργειας

microfluidics (στοιχεία θεωρίας)

Στοιχεία από τη ρευστομηχανική

Ρευστό ως συνεχές μέσο

- οι εξισώσεις που χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό "κυκλωμάτων" microfluidics είναι αυτές των Navier - Stokes, ισχύει δηλαδή η παραδοχή για την μηχανική του συνεχούς μέσου. Έχει προκύψει (πειραματικά) ότι τα αποτελέσματα από την παραπάνω θεώρηση είναι ακριβή. Ενδεικτικά σε ένα picoliter [$10\mu\text{m}^3$] περιέχονται $\sim 10^{13}$ μόρια νερού.
- η παραδοχή αυτή αρχίζει να μην ισχύει για μεγέθη μήκους κάποιων μοριακών διαμέτρων

microfluidics (στοιχεία θεωρίας)

Στρωτή ροή

- Επειδή οι μικρορροές είναι συνήθως στρωτής φύσης, απλές ροές όπως η ροή Poiseuille είναι συνήθεις. Ροή Poiseuille παρουσιάζεται όταν έχουμε σταθερή, πλήρως ανεπτυγμένη ροή, υπό σταθερή πίεση, νευτώνειου ρευστού σε έναν αγωγό.

Το προφίλ ταχύτητας για ροή Poiseuille είναι παραβολικό, με τη μέγιστη ταχύτητα να βρίσκεται στο κέντρο του αγωγού. Οι εξισώσεις για ροή Poiseuille σε κυλινδρικό κανάλι είναι οι εξής:

$$v_z(r) = 2U[1 - (\frac{r}{R})^2]$$

$$U = -\frac{R^2}{8\mu} \frac{dP}{dz}$$

$$Q = -\frac{\pi R^4}{8\mu} \frac{dP}{dz}$$

microfluidics (στοιχεία θεωρίας)

Ηλεκτροκινητική

Η ηλεκτροκινητική ενσωματώνει σειρά μεθόδων για την επιβολή κίνησης σε φορτισμένα σωματίδια ή αγωγίμα μέσα με την επιβολή ηλεκτρικών πεδίων. Βασικά φαινόμενα - τεχνικές που εφαρμόζονται στις μικρορροές είναι:

- Ηλεκτροόσμωση (electroosmosis)
- Ηλεκτροφόρηση (electrophoresis)
- Διηλεκτροφόρηση (dielectrophoresis)

microfluidics

ηλεκτροκινητική

Ηλεκτροόσμωση

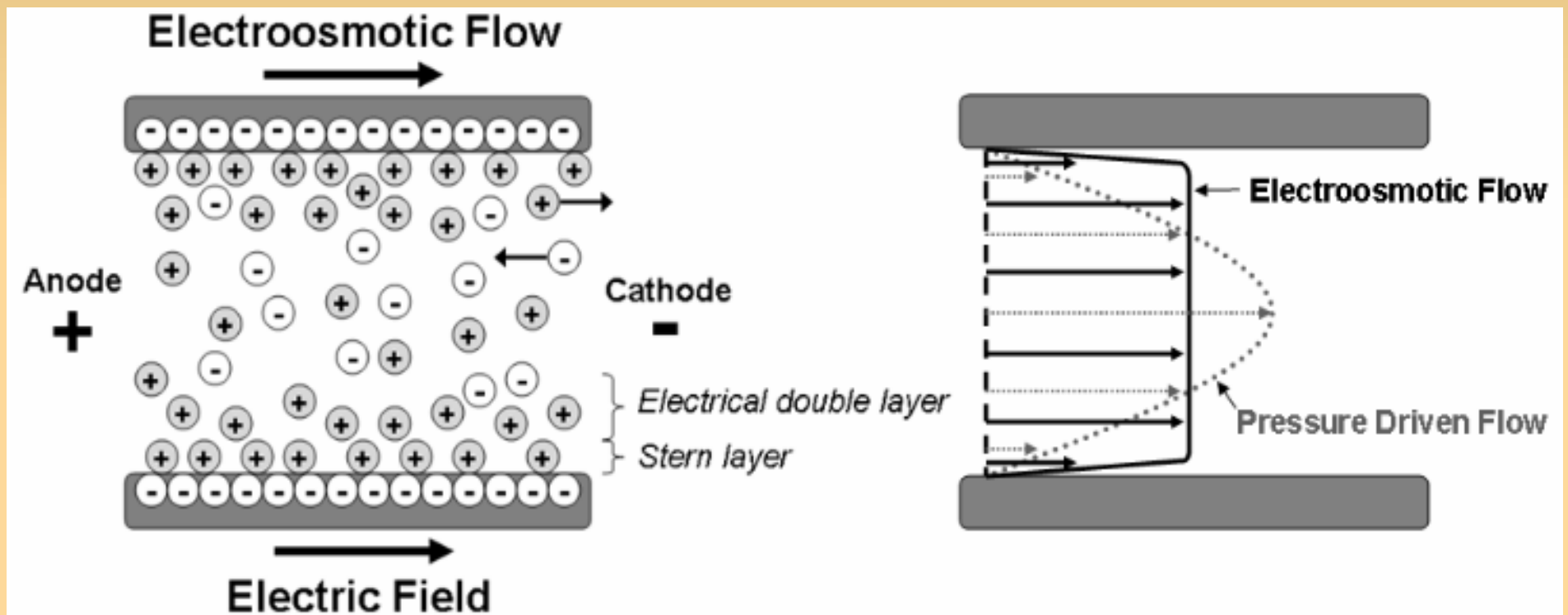
Η ηλεκτροόσμωση είναι η διαδικασία κατά την οποία ηλεκτρολυτικό υγρό σε ένα κανάλι “σύρεται” (λόγω ιξώδους), από τα μετακινούμενα κοντά στα φορτισμένα τοιχώματα του καναλιού ιόντα, υπό την επίδραση ενός ηλεκτρικού πεδίου.

Η ηλεκτροόσμωση επιτρέπει:

- παροχή ρευστού χρησιμοποιώντας μόνο ηλεκτρικά πεδία, καταργώντας έτσι όλα τα κινούμενα μέρη
- ένα προφίλ ταχύτητας, σχεδόν επίπεδο, που εξαλείφει τη διασπορά που προκαλείται από την παραβολική φύση της ροής Poiseuille.

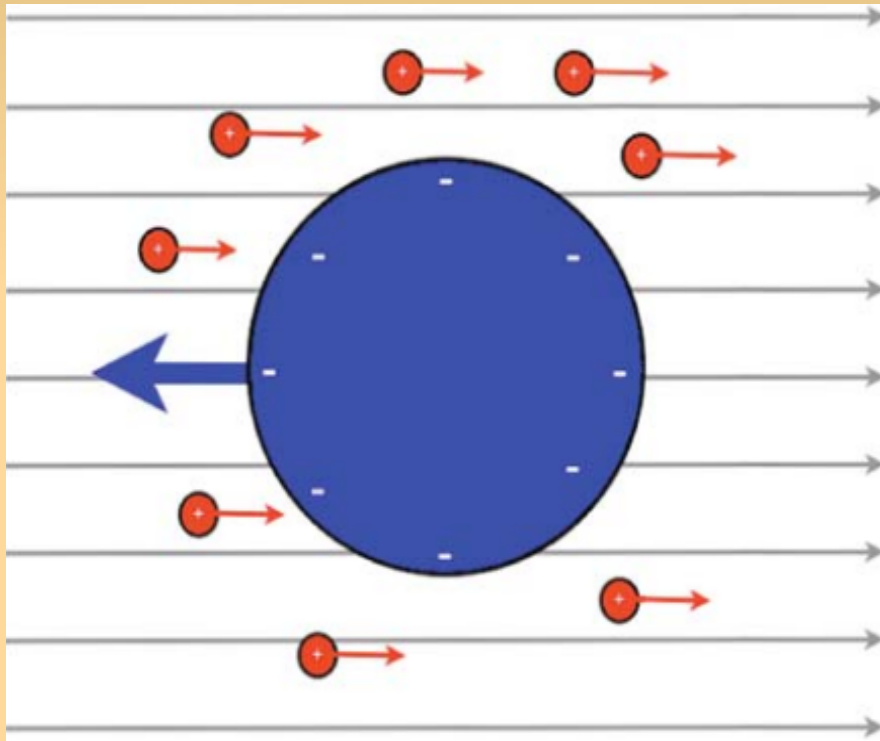
microfluidics ηλεκτροκινητική

Ηλεκτροοσμωτική ροή vs ροή Poiseuille



microfluidics ηλεκτροκινητική

Ηλεκτροφόρηση

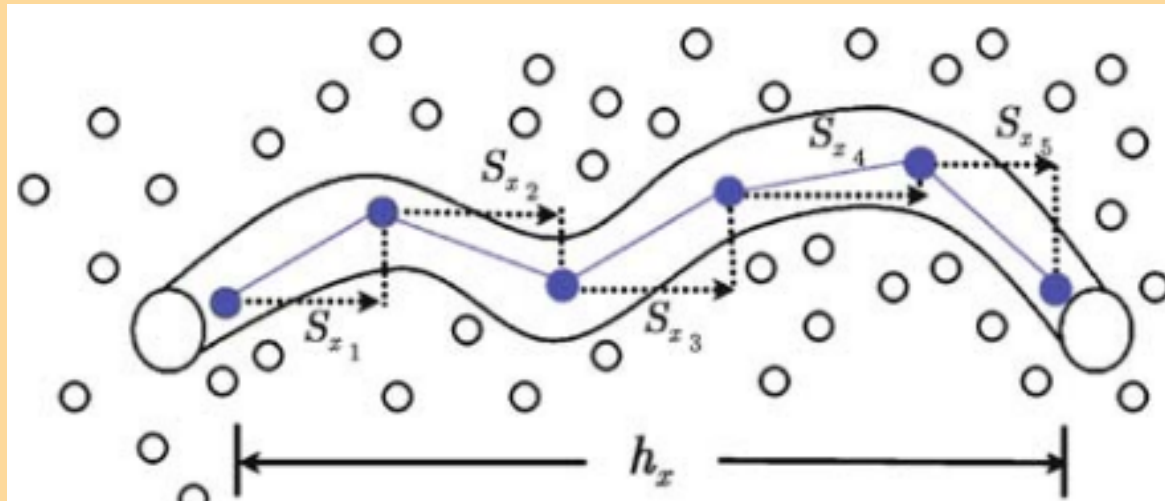


- Η ηλεκτροφόρηση είναι απλά η κίνηση ενός φορτισμένου σωματιδίου υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Τα περισσότερα βιομόρια και τα σωματίδια έχουν επιφανειακό φορτίο που θα επάγει δύναμη στην κατεύθυνση του ηλεκτρικού πεδίου.

microfluidics ηλεκτροκινητική

Ηλεκτροφόρηση

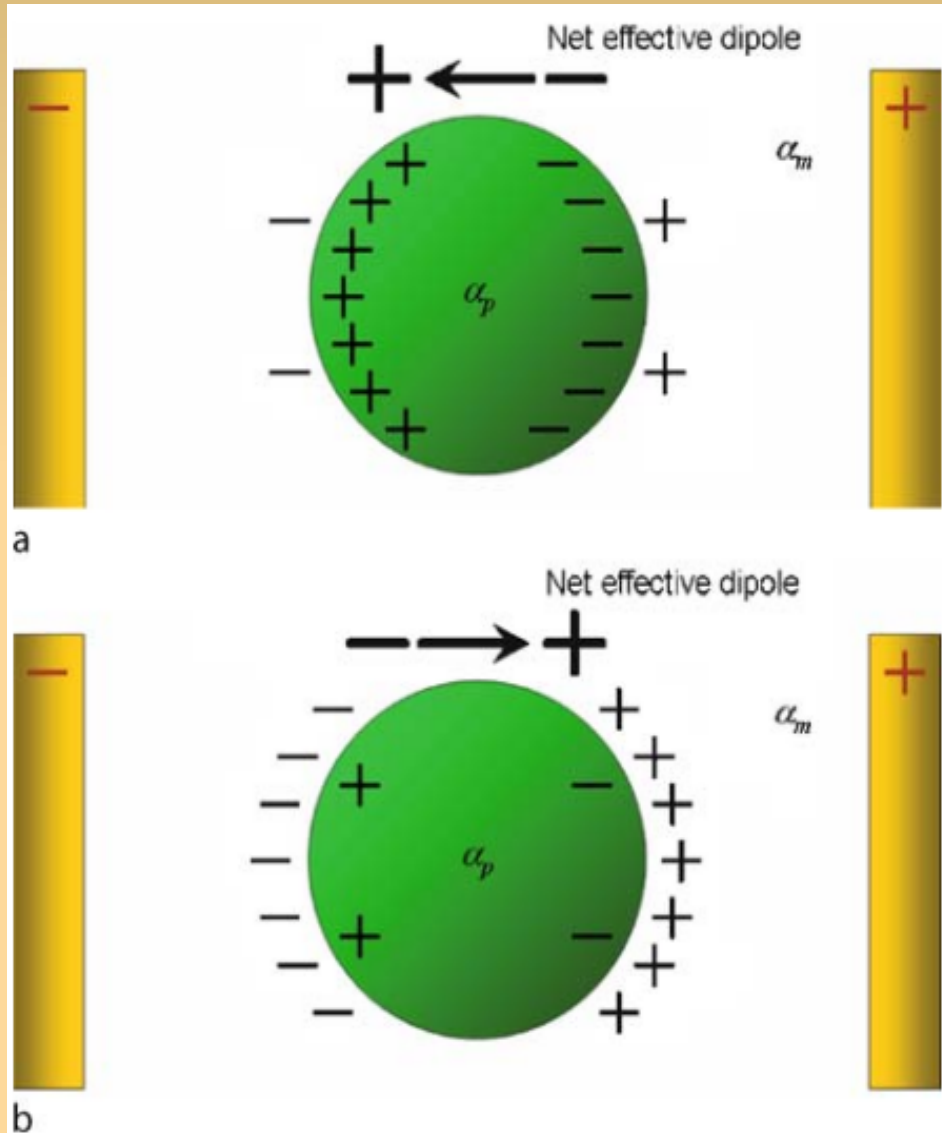
- Όταν ένας μεγάλος πολυηλεκτρολύτης όπως το DNA ηλεκτροφορείται μέσα σε gel, οι ίνες του gel περιορίζουν το DNA σε σωληνωειδούς μορφής σχηματισμό. Η δύναμη επί των τμημάτων του σωληνωειδούς σχηματισμού εξαρτάται από το διάνυσμα κατεύθυνσης s_x του κάθε τμήματος στο ηλεκτρικό πεδίο.



microfluidics ηλεκτροκινητική

Διηλεκτροφόρηση

Η αρχή λειτουργίας της διηλεκτροφόρησης στηρίζεται στην ικανότητα πόλωσης (polarizability) των σωματιδίων σε σχέση με το περιβάλλον μέσο. Στην παρουσία μη ομοιόμορφου ηλεκτρικού πεδίου, τα σωματίδια που έχουν μεγαλύτερη ικανότητα πόλωσης από το περιβάλλον μέσο υφίστανται μια δύναμη προς περιοχές υψηλότερης (πεδιακής) έντασης (θετικών DEP).



microfluidics

αδιάστατοι αριθμοί

Dimensionless number	Definition	Significance	Microfluidic advantage
Reynolds number (Re)	$Re = \frac{ud}{\nu}$	Ratio of inertial forces to viscous forces	Typically Re is small: Results in laminar flow for most microfluidic applications.
Sherwood number (Sh)	$Sh = \frac{kd}{D}$	Ratio of convective to diffusive mass transfer	Typically Sh is small: Diffusion is more important with smaller dimensions.
Bond number (Bo)	$Bo \equiv \frac{\Delta\rho \cdot a \cdot L^2}{\gamma_{12}}$	Ratio of body forces to surface tension forces	Typically Bo is small: Enables pumping via capillary pressure and droplet-based transport systems.

microfluidics genetic analysis

- Με βάση αρχικά επιτεύγματα σε συνεργαζόμενα συστήματα αντιδράσεων και διαχωρισμού, ενοποιημένες δοκιμές (assays) έχουν αναπτυχθεί σε πλήρως λειτουργικές πλατφόρμες μικρορροών.
- Ως βασικό στοιχείο των περισσότερων γενετικών δοκιμών, η τεχνική PCR έχει μελετηθεί εκτενώς στα μικροσυστήματα. Προκύπτουν 2 βασικές κατηγορίες:
- Συστήματα στάσιμης "ροής", όπου το αντιδρόν μείγμα παραμένει σε ένα θάλαμο και θερμαίνεται εξωτερικά ή από on chip θερμαντές.
- Συστήματα συνεχούς ροής, στα οποία το αντιδρόν μείγμα ρέει μεταξύ ζωνών διαφορετικής θερμοκρασίας με ελεγχόμενο ρυθμό.

microfluidics proteomics

Προβλήματα που διευκολύνονται με τη χρήση μικρορροών

- Σε αντίθεση με το DNA και το RNA, για τις πρωτεΐνες δεν υπάρχει κάποια μέθοδος καλλιέργειας (self amplification procedure). Συνεπώς το δείγμα πρέπει να έχει την κατάλληλη συγκέντρωση ή να εμπλουτιστεί ώστε να περιέλθει στη διακριτική ικανότητα των οργάνων.
- Επιπλέον οι πρωτεΐνες είναι ασταθείς τόσο στη θερμοκρασία όσο και στη φυσιολογία τους, κάτι που συνεπάγεται προσοχή στο σχεδιασμό και τη λειτουργία συσκευών μικρορροών που τις διαχειρίζονται.

microfluidics

cellular assays

- Οι μικρορροές έχει αποδειχθεί ότι παρέχουν πιο γνήσια *in vitro* περιβάλλοντα από τις παραδοσιακές τεχνικές καλλιέργειας των κυττάρων, λόγω της αποτελεσματικότερης μεταφοράς θερμότητας και μάζας.
- Σειριακή επεξεργασία και παραλληλοποίηση έχουν επίσης συνεισφέρει στην υψηλή ικανότητα διεκπεραίωσης δοκιμών σε ένα μόνο chip.
- Οι μονοκύτταρες δοκιμές εξαλείφουν τη μακροσκοπική συμπεριφορά που εμφανίζουν σύνολα κυτταρικών πληθυσμών και επιτρέπουν την ακριβή έρευνα μεμονωμένων κυττάρων.

microfluidics

cellular assays

- Οι μικρορροές έχει αποδειχθεί ότι παρέχουν πιο γνήσια *in vitro* περιβάλλοντα από τις παραδοσιακές τεχνικές καλλιέργειας των κυττάρων, λόγω της αποτελεσματικότερης μεταφοράς θερμότητας και μάζας
- Με χρήση καλά ελεγχόμενης στρωτής ροής επιτυγχάνεται ακριβής χειρισμός των κυττάρων, χρησιμοποιώντας για παράδειγμα βαθμίδα pH (pH gradient) ή θερμοκρασιακά βήματα (temperature steps).

microfluidics cellular assays

- Ο συνδυασμός μικρορροών και κυτταρικής καλλιέργειας επίσης χρησιμοποιείται ευρέως στον τομέα της μικροβιακής έρευνας. Ακίνητοποίηση βακτηρίων, έλεγχος της κυτταρικής μορφολογίας, και ανάλυση δυναμικής βακτηριδιακών πληθυσμών έχουν διευκολυνθεί με συσκευές μικρορροών

microfluidics - χορήγηση φαρμάκων

- Εμφυτεύσιμη συσκευή απελευθέρωσης στο οποίο το χρυσό κάλυμμα της ανόδου (α), έχει αφαιρεθεί στο (β) μέσω της εφαρμογής ενός ηλεκτρικού πεδίου ώστε να εκκινήσει η απελευθέρωση του φαρμάκου από ένα μικροδοχείο. Το διάγραμμα στο (c) δείχνει το ρυθμό απελευθέρωσης από το δοχείο κατά τη διάρκεια κάποιων ημερών.

